

BIOSENSOR

Publication number: JP60244853

Publication date: 1985-12-04

Inventor: KOBAYASHI YOSHIKI; DATE HARUYUKI; MIYAWAKI AKIYOSHI

Applicant: MATSUSHITA ELECTRIC WORKS LTD

Classification:

- **International:** C12M1/34; C12M1/40; C12Q1/00; G01N27/28; C12M1/34; C12M1/40; C12Q1/00; G01N27/28; (IPC1-7): C12M1/34; C12M1/40; G01N27/30; G01N27/46

- **European:** C12Q1/00B; G01N27/28

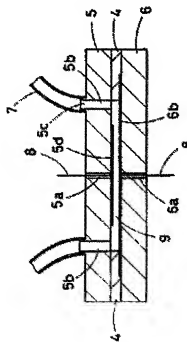
Application number: JP19840103170 19840521

Priority number(s): JP19840103170 19840521

Report a data error here

Abstract of JP60244853

PURPOSE: To increase detection sensitivity and speed up response by forming a passage in which fluid to be measured flows between a plate type working electrode to which a bioactive material is fixed and a counter electrode faces the working electrode at a narrow interval. **CONSTITUTION:** Substrates 5 and 6 face each other across a sheet 4, a large hole 5b as an intake and outlet for the fluid to be measured is provided at both sides of the substrate 5, and the plate type counter electrode 5d to which a conductor 8 is connected is fixed to the inside of the substrate 5. Then, the working electrode 6b which is formed by fixing the bioactive material such as enzyme and a microorganism to a plate type electrode is fixed to the inside flank of the substrate 6, and a conductor is connected to this working electrode 6b. Therefore, the space formed by covering the upper and lower surfaces of the holes of the sheet 4 with the substrates 5 and 6 forms the passage 9 in which the fluid to be measured flows and the working electrode 6b and counter electrode 5d face each other across the passage 9, so they contacts the solution to be measured which passes through the passage 9.



Data supplied from the esp@cenet database - Worldwide

⑩ 公開特許公報(A) 昭60-244853

⑫ Int. Cl.⁴ 識別記号 庁内整理番号 ⑬ 公開 昭和60年(1985)12月4日
 G 01 N 27/30 E-7363-2G
 27/46 A-7363-2G
 // C 12 M 1/34 8412-4B
 1/40 8412-4B 審査請求 未請求 発明の数 1 (全7頁)

⑭ 発明の名称 バイオセンサ

⑮ 特 願 昭59-103170

⑯ 出 願 昭59(1984)5月21日

⑰ 発 明 者 小 林 義 昭 門真市大字門真1048番地 松下電工株式会社内
 ⑱ 発 明 者 伊 達 晴 行 門真市大字門真1048番地 松下電工株式会社内
 ⑲ 発 明 者 宮 脇 明 宜 門真市大字門真1048番地 松下電工株式会社内
 ⑳ 出 願 人 松下電工株式会社 門真市大字門真1048番地
 ㉑ 代 理 人 弁理士 松本 武彦

明 細 書

1. 発明の名称

バイオセンサ

2. 特許請求の範囲

(1) 生理活性物質が固定された板状の作用極およびこれと狭い間隔をおいて向かい合う板状の対極を持ち、両電極の間が被測定溶液の流れる通路になっているバイオセンサ。

(2) 作用極および対極が、間隔をおいて向かい合う2枚の基板の内側面にそれぞれ固定され、通路が、両基板と両基板の間に挿入されて両基板の両側開口を埋めるスペーサにより形成されている特許請求の範囲第1項記載のバイオセンサ

3. 発明の詳細な説明

この発明は、フロー式のバイオセンサに関する。

(背景技術)

従来、一般に、バイオセンサには、比較的大きな市販の酸素電極あるいは過酸化水素電極などが使用されていた。そのため、これらのバイオセン

サをフローシステム(フロー式測定装置)に組み込んで測定を行う場合、セルの容積が大きくなるので、検出感度が低くなり、応答速度も遅くなっていた。このことをつぎに詳しく説明する。

第1図は、従来のフロー式バイオセンサをあらわす。図にみるように、このバイオセンサは、被測定溶液の通路1と市販の酸素電極2を持つ。酸素電極2の先端にはグルコースオキシゲナーゼ等の生理活性物質が固定された膜3が設けられており、この膜3は通路1を流れる被測定溶液と接している。図中、1aは入口、1bは出口、2aはテフロン膜のような酸素を透過しやすい高分子膜、2bは作用極、2cは対極、2dは内部液をそれぞれあらわす。

このバイオセンサを用いて試料中における被測定物質の濃度の測定を行う場合は、たとえば、つぎのようにして行う。膜3にグルコースオキシゲナーゼが固定され、グルコースを含む試料を測定する場合について説明する。まず、通路1に溶液を流しておき、つぎに、溶液に試料を加える。試料

は入口1aから通路1にはいり、膜3と接する。そうすると、グルコースオキシダーゼの触媒作用により、試料中のグルコースと酸素とが反応(酸素反応)して過酸化水素が生成する。この反応により、溶液中の酸素濃度が減少し、膜3を通過して酸素電極2内に入る酸素の量も減少する。作用極2bと対極2cにより、酸素の還元電流の減少量を測定する。この減少量は試料中の被測定物質の濃度と対応したものとなる。膜2aとして過酸化水素を通しやすしい膜を用いるようにして、第1図で示された構造の酸素電極2を過酸化水素電極2として用い、つぎのようにして測定を行うこともできる。すなわち、酵素反応で生成した過酸化水素の一部は膜3を通過し(その他の出口1bから出ていく)過酸化水素電極2内に入る。この過酸化水素の酸化電流を測定する。得られる測定値は試料中の被測定物質の濃度と対応したものとなる。

しかしながら、第1図にみるように、酸素電極(過酸化水素電極)2における電気化学反応が行

われるセルの容積(作用極2bおよび対極2cを浸す内部液2dの体積)が大きいため(作用極2bおよび対極2dを収容するため必然的に大きくなる)、バイオセンサの検出感度が低く、応答速度も遅くなっていたのである。

(発明の目的)

この発明は、このような事情に鑑みてなされたもので、検出感度が高く、応答速度も速いものとするのできるバイオセンサを提供することを目的としている。

(発明の開示)

前記のような目的を達成するため、この発明は、生理活性物質が固定された板状の作用極およびこれと狭い間隔をおいて向かい合う板状の対極を持ち、両電極の間が被測定溶液の流れる通路になっているバイオセンサをその要旨としている。

以下に、この発明を詳しく説明する。

第2図および第3図の(a)~(h)はこの発明にかかるバイオセンサの1実施例をあらわす。図にみるように、このバイオセンサは、軟質材料からなる

薄いスペーサ(シート)4が、基板5、6によりはさまれており、これにより基板5、6は間隔をおいて互いに向かい合っている。スペーサ4の中央には横長の穴4aが開けられている。基板5の中央には縦穴5aが設けられ、その両側には被測定溶液の出入口となる太穴5bが一つづつ設けられている。太穴5bの外側端には、筒状の突出部5cが設けられている。この突出部5cは、チューブ7を接続するためのものである。基板5の内側面には、白金等からなる板状の対極5dが固定されている。この対極5dには、細穴5aに挿入された導線8の先が接続されている。他方、基板6の中央には細穴6aが設けられている。また、基板6の内側面には、白金等からなる板状電極に酵素や微生物等の生理活性物質が固定されてなる作用極6bが、生理活性物質固定面が内面を向くようにして固定されており、この作用極6bには、細穴6aに挿入された導線8の先が接続されている。スペーサの穴4aの上下面が基材5、6で覆われてできた空間は被測定溶液が流れる通路9

になつており、この通路9の両端はそれぞれ基板5の二つの太穴5b、5bに接続されている。また、作用極6bと対極5dは、通路9をはさんで互いに向かい合っており、通路9を通る被測定溶液と接するようになっている。作用極と対極は互いに逆の位置にあつてもよい。

このバイオセンサは、スペーサとして厚みの薄いものを用いて作用極と対極の間隔を狭くし、セル容積(通路の容積)を小さくすることにより、検出感度が高く、応答速度も速いものとすることができる。そのため、従来のバイオセンサに比べて試料量が少なくてすむという効果もある。

このバイオセンサは、たとえば、次のようにして用いられる。作用極6bとしてグルコースオキシダーゼが固定されたものを用いた場合について説明する。まず、作用極6bに+0.6V(対対極5d)を印加し、緩衝液を毎分3mLの速度でチューブ7→太穴5b→通路9→太穴5b→チューブ7という順に流しておく。つぎに、グルコースを含む試料10μLを通路9に通す。そうすると

、グルコースと酸素は、グルコースオキシダーゼの触媒作用により、下記の酵素反応を行う。

グルコース + O₂ + H₂O → グルコン酸 + 過酸化水素

この式で示されるように、グルコースが酵素変換されることによつて過酸化水素が生じ、この過酸化水素は電解酸化される。この酸化電流を検出することによりグルコース濃度を測定することができる。

作用極6bに-0.7V(対対極2d)の電圧を印加するようしておけば、緩衝液が通路9を流れている間は緩衝液中に溶けている酸素の還元電流が作用極6bと対極5d間に流れている。しかし、グルコースを含んだ試料が作用極6bと対極5dの間を通ると前記酵素反応によつて緩衝液中の酸素量が減少し、酸素の還元電流量も減少する。この減少量を測定することにより試料中のグルコース濃度を測定することができる。このように、このバイオセンサは、作用極に印加する電圧を正または負に変えることにより、作用極を過酸化

水素検出用あるいは酸素検出用の電極として用いることができるという効果もある。

前記バイオセンサは、被測定溶液の出入口が通路に対し、垂直方向を向いた構造をしているが、第4図および第5図の例に示されているバイオセンサのように、出入口と通路が同一線上にある構造になっていてもよいし、第6図および第7図の例に示されているバイオセンサのように、一方の出入口が通路に対し垂直方向を向き、残りの出入口が通路と同一線上にある構造になっていてもよい。

第4図および第5図の例に示されているバイオセンサは、軟質材料からなる2枚の薄いスペーサ10が基板11、12によりはさまれており、そのため、基板11、12が、間隔をおいて互いに向かい合っている。そして、2枚のスペーサ10、10同士も、間隔をおいて並べられている。基板11、12は、いずれも中央に細穴11a、12aが設けられ、長さ方向両側には半円形の突出部11b、11b、12b、12bが設けら

れている。突出部11b、12bは互いに合わさつて管状となり、チューブ7の接続部となっている。基板11の内側面には板状の対極11cが固定され、この対極11cには細穴11aに挿入された導線8の先が接続されている。基板12の内側面には、生体活性物質固定面が内側を向くようにして作用極12cが固定されており、この作用極12cにも、細穴12aに挿入された導線8の先が接続されている。基板11および12とスペーサ10、10で囲まれた空間が、被測定溶液が流れる通路13となっており、通路13の両端が被測定溶液の出入口13a、13aとなっている。作用極12cと対極11cは通路13をはさんで向かい合っており、通路13を通る被測定溶液と接しうようになっている。

第6図および第7図の例に示されているバイオセンサは、軟質材料からなる薄いスペーサ14が基板15、16によりはさまれており、基板15、16は間隔をおいて互いに向かい合っている。基板15、16は、いずれも、中央に細穴15

a、16aが設けられ、長さ方向一侧には半円形の突出部15b、16bが設けられている。突出部15b、16bは互いに合わさつて、チューブ7の接続部となっている。基板15の細穴15aからみて突出部15bの反対側には太穴15cが設けられている。太穴15cの外側端には筒状の突出部15dが設けられている。この突出部15dはチューブ7を接続するためのものである。基板15の内側面には板状の対極15eが固定され、この対極15eには細穴15aに挿入された導線8の先が接続されている。基板16の内側面には、生体活性物質固定面が内側を向くようにして作用極16cが固定されており、この作用極16cには、細穴16aに挿入された導線8の先が接続されている。スペーサ14には、長さ方向一端から他端の方に向かって延びる切欠部14aが設けられている。この切欠部14aの上下が基材15、16で囲まれてなる空間は、被測定溶液が流れる通路17となっている。通路17の内側端は太穴15cと接続しており、太穴15cと通路1

7の外側端は被測定溶液の出入口となっている。作用極15cと対極15eは通路17をはさんで向かい合っており、通路17を通る被測定溶液と接しうようになっている。

後で説明した二つのバイオセンサも、スぺーサとして厚みの薄いものを用いて作用極と対極の間隔を小さく、セル容積を小さくすることにより、検出感度が高く、応答速度も速いものとする事ができ、先のもと同じ効果を得ることができる。後で説明した二つのバイオセンサは、先のものと同様に用いられる。

つぎに実施例および比較例について説明する。
(実施例)

第2図および第3図のa~dに示されている構造のバイオセンサを実施例1、第4図および第5図a~dに示されている構造のバイオセンサを実施例2、第6図および第7図のa~dに示されている構造のバイオセンサを実施例3とした。ただし、作用極としては白金板にグルコースが固定されたもの、対極としては白金板をそれぞれ用いるこ

ととした。

(比較例)

第1図に示されている構造のバイオセンサを比較例とした。ただし、グルコースが固定化された膜が授けられた酸素電極を用いることとした。

実施例1~3および比較例のバイオセンサを使用して測定を行い、測定の際の検出感度および応答速度(試料を注入してから分析結果が得られるまでの時間)を調べた。結果を第1表に示す。

ただし、測定条件はつぎのとおりである。

試料: 100mg/dl グルコース溶液10ml

線流液速度: 3ml/min

電圧: 作用極+0.7V

温度: 30℃

(以下、余白)

第1表

	検出感度(μA)	応答速度(秒)
実施例1	0.8	5
実施例2	0.95	5
実施例3	0.9	5
比較例	0.05	20

第1表より、実施例1~3のバイオセンサは、比較例のものに比べ、検出感度が高く、応答速度も速いことがわかる。

実施例1~3のバイオセンサの作用極に+0.7Vの電圧を印加して、作用極を過酸化水素検出用電極として用い、100mg/dlのグルコース溶液を試料として用いて測定を行った。酸化電流の測定結果を第8図に示す。図中、aはベースライン、bは0.5μAをあらわす。

実施例1~3のバイオセンサの作用極に-0.7Vの電圧を印加して、作用極を酸素検出用電極として用い、100mg/dlのグルコース溶液を試料として用いて測定を行った。還元電流の測定結果

を第9図に示す。図中、cはベースライン、dは0.2μAをあらわす。

第8図および第9図より、実施例1~3のバイオセンサは検出感度が高いことがわかる。

(発明の効果)

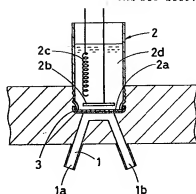
この発明にかかるバイオセンサは、生理活性物質が固定された板状の作用極およびこれと狭い間隔において向かい合う板状の対極を持ち、調電極の間が被測定溶液の流れる通路になっているので、検出感度が高く、応答速度も速いものとする事ができる。

4. 図面の簡単な説明

第1図は、従来のバイオセンサの縦断面図、第2図はこの発明にかかるバイオセンサの1実施例の縦断面図、第3図のaは同バイオセンサの基板5の底面図、同aは同バイオセンサのスぺーサ4の平面図、同bは同バイオセンサの基板6の平面図、第4図はこの発明にかかるバイオセンサの別の実施例の縦断面図、第5図のaは同バイオセンサの基板11の底面図、同aは同バイオセンサの

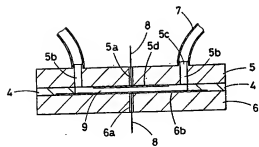
スペーサ10の平面図、同図は同バイオセンサの基板12の平面図、第6図はこの発明にかかるバイオセンサの別の実施例の縦断面図、第7図の図は同バイオセンサの基板15の底面図、同図は同バイオセンサのスペーサ14の平面図、同図は同バイオセンサの基板16の平面図、第8図は酸化電流の測定結果をあらわすグラフ、第9図は還元電流の測定結果をあらわすグラフである。

5d, 11c, 15e…対極 6b, 12c, 16c…作用極 9, 13, 14…通路

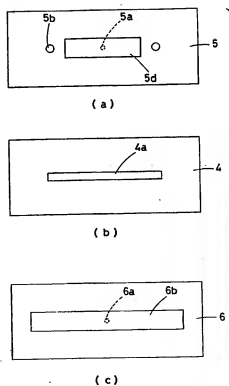


第1図

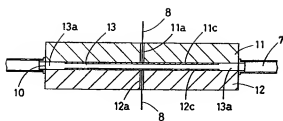
代理人 弁理士 松本武彦



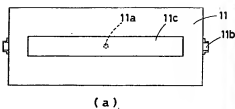
第2図



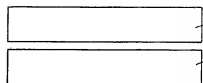
第3図



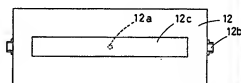
第 4 図



(a)

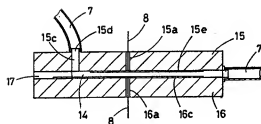


(b)

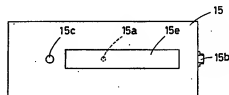


(c)

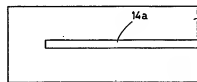
第 5 図



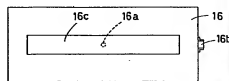
第 6 図



(a)



(b)



(c)

第 7 図

昭和59年 7月19日

特許庁長官 殿

1. 事件の表示

昭和59年特許第103170号

2. 発明の名称

バイオセンサ

3. 補正をする者

一 事件との関係 特許出願人

住 所 大阪府門真市大字門真1048番地

名 称 (583) 松下電工株式会社

代 表 者 代表取締役 小林 郁

4. 代 理 人

住 所 〒530 大阪市北区天神橋2丁目4番17号

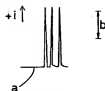
千代田第一ビル9階

電 話 (06) 352-0846

氏 名 (7346) 弁理士 松 本 武 彦

5. 補正により増加する発明の数

な し



第 8 図



第 9 図

6. 補正の対象

明細書

7. 補正の内容

- (1) 明細書第3頁第3行ないし同頁第4行に「
酸素反応」とあるを、「酸素反応」と訂正する。